

**EUR 2201.f**

LIBRARY COPY

COMMUNAUTÉ EUROPÉENNE DE L'ÉNERGIE ATOMIQUE - EURATOM

**RADIOBIOLOGIE CELLULAIRE  
ET BIOCHIMIQUE**

Rapport Final 1964

1965



Rapport établi par le Centre d'Etude de l'Energie Nucléaire - C.E.N.  
Mol, Belgique

Contrat Euratom N° 014-62-1 BIOB

## AVERTISSEMENT

Le présent document a été élaboré sous les auspices de la Commission de la Communauté Européenne de l'Energie Atomique (EURATOM).

Il est précisé que la Commission d'EURATOM, ses cocontractants ou toute personne agissant en leur nom :

- 1° — Ne garantissent pas l'exactitude ou le caractère complet des informations contenues dans ce document, ni que l'utilisation d'une information, d'un équipement, d'une méthode ou d'un procédé décrit dans le présent document ne portent pas atteinte à des droits privatifs.
- 2° — N'assument aucune responsabilité pour les dommages qui pourraient résulter de l'utilisation d'informations, d'équipements, de méthodes ou procédés divulgués dans le présent document.

Ce rapport est vendu au prix de 40,— francs belges, sur demande adressée à : PRESSES ACADÉMIQUES EUROPÉENNES - 98, Chaussée de Charleroi, Bruxelles 6.

Le paiement se fait par versement à la :

- BANQUE DE LA SOCIÉTÉ GÉNÉRALE (Agence Ma Campagne) - Bruxelles - compte N° 964.558,
- BELGIAN AMERICAN BANK AND TRUST COMPANY - New York - compte N° 22.186,
- LLOYDS BANK (Europe) Ltd. - 10, Moorgate - London E.C.2,

en mentionnant la référence : « EUR 2201.f - RADIOBIOLOGIE CELLULAIRE ET BIOCHIMIQUE ».

Achevé d'imprimer par Euratom,  
Bruxelles, avril 1965.

Ce document a été reproduit à partir de la meilleure copie disponible.

**EUR 2201.f**

COMMUNAUTÉ EUROPÉENNE DE L'ÉNERGIE ATOMIQUE - EURATOM

**RADIOBIOLOGIE CELLULAIRE  
ET BIOCHIMIQUE**

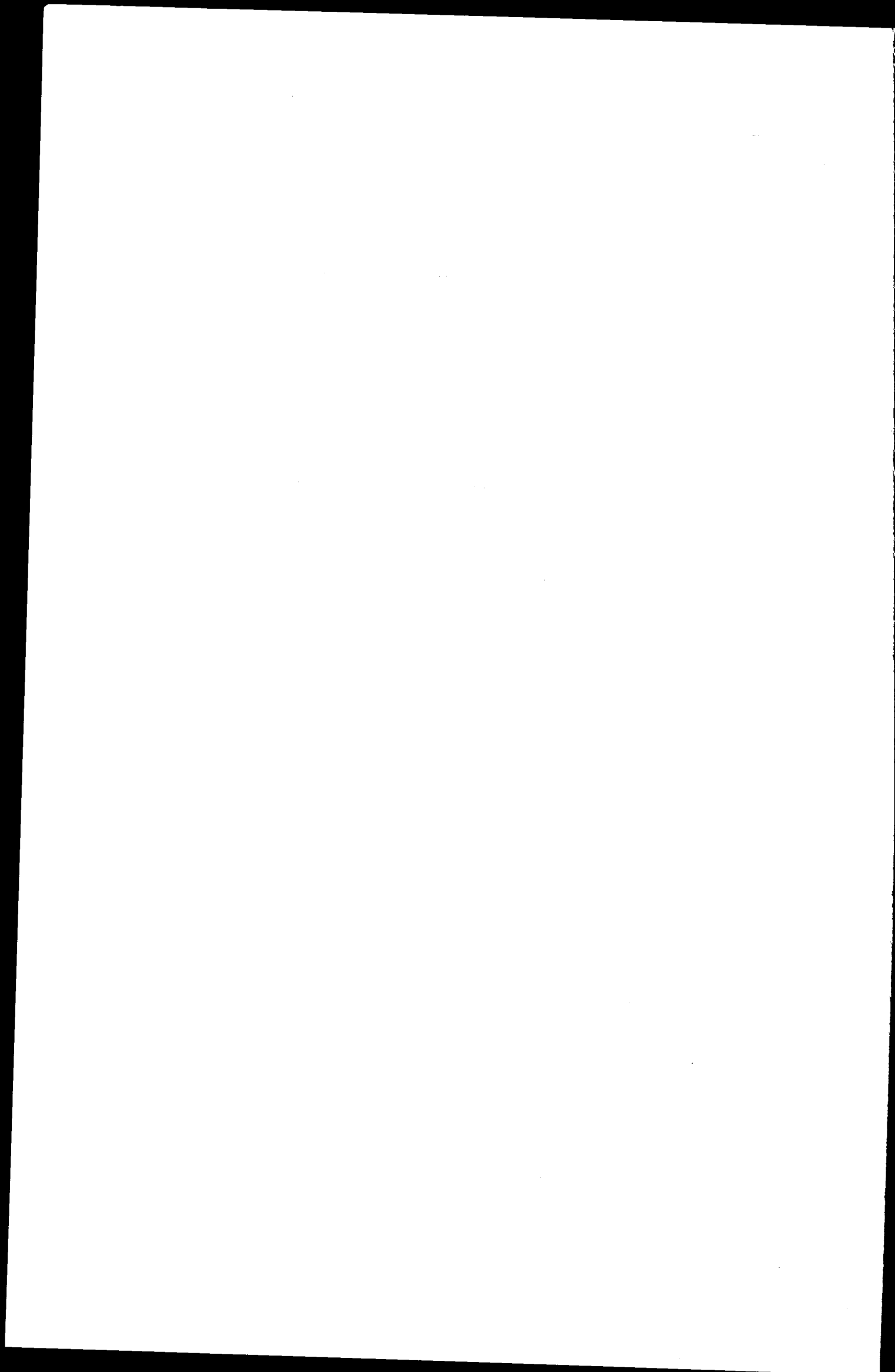
Rapport Final 1964

1965



Rapport établi par le Centre d'Etude de l'Energie Nucléaire - C.E.N.  
Mol, Belgique

Contrat Euratom N° 014-62-1 BIOB



## SOMMAIRE

1. Modifications protéiques des tissus des souris irradiées.

(A. SASSEN, J.R. MAISIN, F. KENNES et J. FRANSSEN)

2. Etude de l'influence des radiations sur la perméabilité des cellules aux macromolécules.

(L. LEDOUX, P. GALAND, M. CALLEBAUT, R. HUART et P. CHARLES)

3. Etude sur la radioprotection du foie de rat en régénération.

(R. GOUTIER, L. BAUGNET-MAHIEU et I. BOLOGNA)

## MODIFICATIONS PROTEIQUES DES TISSUS DE SOURIS IRRADIEES

Le but de cette recherche était l'étude des modifications des protéines chez des souris irradiées ou transplantées par de la moelle osseuse iso- ou allogénique.

Nous avons, pour étudier ce problème, utilisé les techniques de microélectrophorèse en gélose et d'immunoélectrophorèse. Ces méthodes permettent, en effet, tout en ayant un pouvoir de résolution excellent, d'analyser de très faibles quantités de matériel.

### I. ANIMAUX NORMAUX

La première étape avait pour but de préciser l'image du sérum de souris normales en fonction des différentes races (C57B1, AK, C<sup>+</sup>, CBA) et d'obtenir des données quantitatives à partir desquelles il serait possible de mesurer les altérations produites par l'irradiation, les résultats publiés en détail (1) peuvent se résumer ainsi: l'électrophorèse en gélose met en évidence, dans le sérum de souris, 11 fractions protéiques, dont la préalbumine; l'immunoélectrophorèse révèle 22 lignes de précipitation; avec certains antisérums, 2 arcs supplémentaires peuvent être mis en évidence; l'image électrophorétique est semblable pour les 4 races étudiées; les seules différences qui ont été observées portent sur le taux de protéines totales et la concentration en  $\alpha_{2-\beta}$  et en  $\gamma$ -globulines.

Nous avons ensuite abordé l'étude des protéines tissulaires afin de pouvoir analyser les modifications survenant dans les organes après une irradiation. La mise au point d'une technique utilisable pour le foie, la rate et les ganglions d'une souris a été assez laborieuse.

Une homogénéisation énergique en présence de détergents et une centrifugation à 40.000 g ont finalement permis d'obtenir un extrait protéique convenant à l'électrophorèse (2). Le foie, la rate et les ganglions montrent respectivement 24, 15 et 16 fractions. En immunoélectrophorèse, une fraction des protéines d'organes donne une réaction croisée avec l'albumine sérique; dans tous les tissus, cette fraction possède une mobilité relative plus élevée que la sérum-albumine, et ceci tant chez le rat que chez la souris (3).

Il n'a pas été possible de mettre en évidence, par électrophorèse en gélose, la phosphatase alcaline du sérum; par contre, les isoenzymes de la lactico-déshydrogénase (LDH) ont été étudiés avec plus de succès. Le sérum et la majorité des organes montrent, en général, 5 fractions dont les proportions varient; le testicule, par contre, possède 6 ou même 7 isoenzymes.(7).

## II. ANIMAUX IRRADIES

Chez des souris irradiées, les modifications des protéines sériques varient selon la dose de rayons X: pour des doses supérieures à 700 r (LD/100) les phénomènes sont irréversibles et sont résumés dans le Tableau I. Avec des doses inférieures, les modifications sont, d'une part, moins intenses et, d'autre part, suivies par une phase de régénération avec une tendance à la normalisation de l'image protéique (Tableau I).

Des infections microbiennes, spécialement par *B.Pseudomas* ou *B.Proteus*, ont entraîné un retard considérable dans l'interprétation des résultats obtenus après irradiation, suivie ou non de transplantation iso- ou allogénique; en effet, l'image protéique peut être entièrement modifiée et les effets normaux de l'irradiation totalement masqués par des infections de ce type. Celles-ci ont cependant été maîtrisées par une chloruration de l'eau de boisson (6).

Chez le rat, les effets de l'irradiation sur les protéines sériques sont semblables à ceux observés chez la souris (4); ces modifications ne sont pas dues à l'inanition survenant suite à l'irradiation, car le jeûne entraîne des anomalies inverses à celles obtenues par celle-ci.

Au niveau des protéines tissulaires, les rayons X ne semblent provoquer que de minimes changements: une zone anodique située entre le point d'insertion de l'échantillon et l'albumine augmente de façon diffuse. Quant à la LDH, la rate et le thymus montrent un accroissement net de l'isoenzyme avec une diminution simultanée de la fraction 5 (7).

Pour étudier certains aspects des altérations du métabolisme azoté après une irradiation, l'incorporation d'acides aminés tritiés dans les protéines sériques a été déterminée. Une première conclusion paraît se dégager de ce travail en cours: tant chez les souris irradiées que chez celles irradiées et transplantées par de la moelle osseuse, l'incorporation de phénylalanine-<sup>3</sup>H dans toutes les fractions protéiques est égale ou parfois supérieure aux valeurs

des témoins (8). Lors de la perfusion de foie de rats irradiés, on observe exactement le même phénomène; de plus, le marquage de la préalbumine indique que celle-ci est synthétisée par le foie.

Les recherches ultérieures devront préciser :

1. Si les diminutions de concentration protéique observées après irradiations sont dues à une accélération du catabolisme ou à une perte de protéines;
2. Les réactions immunologiques chez les chimères et l'influence de celles-ci sur le métabolisme protéique;
3. La nature des fractions observées dans les protéines tissulaires.

T A B L E A U I.

Fractions protéiques	E v o l u t i o n g é n é r a l e a p r è s :			
	Rayons X		Transplantation	
	Dose létale	Dose sublétale	Isogénique	Allogénique
Préalbumine	- 70 % C	- 30 % puis N	- 50 % puis N	- 50 % puis + 20 %
Albumine	- 25 % C	N	- 20 % puis N	- 20 %
$\alpha_1$	- 40 % V	N	+ 10 % puis N	+ 20 %
$\alpha_2$ -A	+ 40 % puis N	N	N	V
$\alpha_2$ -B	+ 60 %	+ 15 % puis N	+ 20 % puis N	+ 60 % puis N
$\alpha_2$ -C	+ 260 % C	+ 100 % puis V	+ 150 % puis N	+ 300 %
$\alpha_2$ -D	+ 50 % V	V	+ 60 % puis N	+ 100 %
$\beta_1$	- 25 % V	V	N	N ou V
$\beta_2$	+ 70 % C	+ 50 % puis N	+ 50 % puis N	V
$\beta_3$	V	N	N	V
$\gamma$	- 90 % C	- 50 % puis N	- 40 % puis N	- 90 % V
Protéines totales	- 40 %	- 10 % puis N	- 10 % puis N	- 40 %

- indique le pourcentage de diminution de concentration par rapport aux contrôles  
+ indique le pourcentage d'augmentation de concentration par rapport aux contrôles  
N indique un taux normal (équivalent à 100 %)  
V indique une évolution variable  
C indique une évolution constante.



BIBLIOGRAPHIE

1. - SASSEN, A., KENNES, F. et MAISIN, J. R. - Etude par microélectrophorèse en gélose et immunoélectrophorèse des protéines sériques de la souris, Rev.Fr. Clin.Biol., 8, 366, (1963).
- 4 - SASSEN, A., KENNES, F. et MAISIN, J. R. - Etude des modifications protéiques du sérum de rat après une irradiation totale, C.R.Soc.Biol., 157, 1122, (1963).
- 5 - SASSEN, A., KENNES, F. et MAISIN, J. R. - Modifications of serum proteins of normal, irradiated and bone marrow transplanted mice, Second Intern.Congress of Radiation Research, Harrogate, 1962.
- 6 - SASSEN, A., MATTELIN, G., KENNES, F. et MAISIN, J. R. - Effect of chlorination of drinking water on mortality after whole-body X-irradiation, Nature, 198, 1318, (1963).

Sous presse

- 2 - SASSEN, A., KENNES, F. et MAISIN, J. R. - Etudes des protéines tissulaires solubles. I. Microélectrophorèse en gélose du foie, de la rate et des ganglions de la souris normale, Bull.Soc.Chimie Biol.
- 3 - SASSEN, A., KENNES, F. et MAISIN, J. R. - Electrophorèse en gélose des protéines tissulaires de la souris, in "Protides on the Biological Fluids" - 11ème Colloque, Bruges, 1963.
- 7 - FRANSSEN, J., SASSEN, A. et KENNES, F. - Etudes des isoenzymes de la déshydrogénase lactique après irradiation.
- 8 - SASSEN, A., FRANSSEN, J. et KENNES, F. - Modifications des protéines sériques des animaux irradiés, Réunion des Radiobiologistes des Pays de l'Euratém, Karlsruhe, 1963.

ETUDE DE L'INFLUENCE DES RADIATIONS SUR LA PERMEABILITE DES CELLULES  
AUX MACROMOLECULES

---

I. ORGANES VEGETAUX

A. Translocation d'acides ribonucléiques

A l'aide de préparations d'acides ribonucléiques de levure, marqués au  $^{14}\text{C}$ , au  $^3\text{H}$  ou au  $^{14}\text{C}$  et au  $^3\text{H}$ , nous avons pu montrer que le RNA diffuse progressivement à travers la graine en germination jusque dans le coléoptile et les racines de la plantule (2).

La quantité de RNA transféré, apparemment sans dégradation appréciable, diminue avec l'âge des plantules et avec l'importance croissante de leur métabolisme propre du RNA bien polymérisé est mieux absorbé que celui qui est prédigéré enzymatiquement. Les évidences actuellement obtenues sont contre toute profonde dégradation préliminaire suivies d'une resynthèse de la macromolécule in situ. Ceci a été montré dans les expériences où nous avons utilisé du RNA doublement marqué et où le rapport des marques, au cours de l'expérience, est resté constant. Nos résultats montrent également que les racines absorbent beaucoup plus de RNA que le coléoptile. D'autre part, la quantité ainsi absorbée représente une grande partie de la quantité de RNA qui apparaît normalement durant une période équivalente de croissance normale de la plantule.

Ce RNA de levure peut être détecté dans le cytoplasme du coléoptile et des racines par autoradiographie et dans leurs fractions "granules légers" par ultracentrifugation fractionnée.

Le RNA de levure possède une action inhibitrice principalement sur la croissance radiculaire, c'est-à-dire au lieu même de l'absorption préférentielle.

Des expériences comparatives ont été effectuées à partir de RNA analogue marqué au thiouracile- $^{35}\text{S}$  ou au thiouracile- $^{14}\text{C}$  (+). Nos résultats montrent que ce thio-RNA pénètre dans les cellules du coléoptile ou dans celles des racines de l'orge en germination. L'importance de l'absorption est cependant 10 à 30 fois plus faible pour le thio-RNA que pour les RNA normaux et, ici aussi,

---

(+) Cfr: Bauernfeind, A. et Ledoux, L?, Arch.intern.Physiol.Biochim., 71, 121-122, 1963

Bauernfeind, A. et Ledoux, L., Arch.intern.Physiol.Biochim., 71, 123-124, 1963.

l'affinité des organes pour la macromolécule diminue avec l'âge de l'embryon et avec l'accroissement de ses activités de synthèse (9, 10).

Ces résultats suggèrent que l'importance de l'absorption et (ou) de la rétenyion de l'acide ribonucléique par les cellules d'orge dépend de la composition et (ou) de la structure de celui-ci.

#### B. Translocation d'acides désoxyribonucléiques (DNA)

Nous avons étendu les recherches décrites ci-dessus à l'acide désoxyribonucléique.

Les premiers résultats obtenus par les méthodes d'analyse classique indiquaient que le DNA, qui migre à travers la gaine jusqu'aux racines, y arrive intact, tandis qu'il semblait détruit par les coléoptiles (10).

Afin d'étudier plus en détail ces phénomènes, nous avons mis au point une méthode originale de chromatographie sur papier de DEAE-cellulose (12). Cette méthode nous permet d'obtenir plusieurs fractions différentes à partir des acides nucléiques utilisés et de suivre des fractions pendant leur absorption par les organes de l'orge. Les résultats ainsi obtenus confirment les premières données biochimiques et montrent que le DNA est absorbé par les cellules des racines sans dégradation préalable appréciable et qu'il n'est pas absorbé ni retenu par les cellules du coléoptile (15). En fait, l'étude cinétique révèle l'existence d'un pulse initial d'absorption du DNA par le coléoptile suivi d'une élimination très rapide de ce DNA et de l'acido-soluble formé. Ce phénomène est suivi d'une lente réabsorption des composés acido-solubles et d'une lente synthèse de novo de DNB à partir de ces composés.

Nous avons préparé, à ce jour, plusieurs lots d'acides désoxyribonucléiques à très haute activité spécifique (1 Ci/mM). Ces différentes préparations ont un même diagramme spécifique d'élution chromatographique. Grâce à la propriété d'autoradiolyse<sup>(+)</sup> de ces DNA, nous avons disposé, au cours des derniers mois, de préparations présentant des profils différents. Nous avons ainsi été en mesure d'effectuer une comparaison assez étendue de l'absorption et du sort de différentes espèces macromoléculaires de DNA.

---

(+) Etudiée sous contrat Euratom/C.E.N. n° 024-62-3 RISB

Les résultats obtenus montrent clairement que la structure chromatographique du DNA absorbé par les plantules se retrouve intégralement dans les cellules des racines. Dans le coléoptile, au contraire, on observe une dégradation très grande et une convergence vers un modèle commun à partir des différentes espèces de DNA utilisées. Les autoradiographies confirment la haute radioactivité et la localisation spécifique de ces DNA marqués dans le noyau des cellules des racines d'orge en germination. A noter, qu'ici aussi, nous observons un effet de l'âge de l'embryon: plus l'embryon est âgé, plus le DNA est hydrolysé au cours de son transfert de la graine aux différents organes.

Des expériences toutes récentes, destinées à l'étude du sort de la molécule ingérée, ont été effectuées à l'aide de pulses brefs de DNA radioactif, suivis par une incubation longue en présence de DNA non radioactif.

Il semble que le DNA absorbé par les cellules des racines reste non modifié pendant plusieurs heures; après 1 jour, cependant, il semble (mais ces résultats préliminaires doivent encore être confirmés) que le DNA a été remodelé par les cellules où il a pénétré intact sans, pour autant, provoquer de diminution.

A noter que ces résultats sont en accord avec ceux que nous avons obtenus (17) en suivant l'incorporation de la thymidine-<sup>3</sup>H dans le DNA des cellules d'ascites. En effet, dans ce cas, bien que la marque globale du DNA reste stable au cours du temps, on observe une modification progressive de l'importance relative des différentes fractions éluées par chromatographie. Ceci suggère qu'une partie des molécules constituant "le DNA" cellulaire, subissent, normalement, certains remodelages conduisant à des modifications progressives de leur structure fine.

#### C. Effet des rayons X sur la translocation des acides nucléiques et des protéines marquées dans l'orge en voie de germination

Des acides nucléiques, de l'ovalbumine, de la conalbumine, du lysozyme et de l'ovomucoïde (préparés par synthèse biologique à partir de blanc d'oeuf de poule) et de la ribonucléase (préparée par tritiation in vitro selon la technique de Wilzbach) ont été utilisés (4).

L'influence des rayons X sur les phénomènes de translocation a été étudiée pour différentes doses. L'irradiation inhibe rapidement la translocation à des doses faibles (500 r); elle la supprime parfois à des doses plus élevées (à partir de 3000 r). A cet égard, toutefois, la translocation des dif-

férentes macromolécules est affectée de manière différente par les rayons X et il semble bien que ces phénomènes ne soient pas liés au poids moléculaire ni au point isoélectrique de la molécule étudiée.

Si on compare ces résultats à ceux qui ont été obtenus lors de l'étude de l'influence des rayons X sur le métabolisme des différents organes de l'orge, on constate que les mécanismes de translocation sont, en général, beaucoup plus radiosensibles que les processus de synthèse. Il faut, en effet, des doses assez élevées (1) pour que ceux-ci soient bloqués rapidement, alors que les phénomènes de translocation se produisent immédiatement, même aux faibles doses.

Au cours de recherches effectuées sur le métabolisme des acides nucléiques et des protéines, nous avons pu montrer (1) que des doses de 500, 2500, 12500 ou 62500 r de rayons X provoquent des modifications de teneur en acides nucléiques et en protéines, qui sont perceptibles plusieurs jours après que la dose a été appliquée. Nous n'avons cependant pas pu mettre en évidence une modification immédiate du métabolisme.

Etant donné la grande radiosensibilité des phénomènes de translocation et étant donné que ces phénomènes semblent être très importants au point de vue quantitatif<sup>(+)</sup>, il n'est pas impossible que leur inhibition par l'irradiation puisse avoir quelque importance sur l'évolution ultérieure des différentes parties de l'embryon.

## II. ORGANES ANIMAUX

### A. Organes génitaux en hyperplasie ou en hypertrophie

Nous avons montré (7) que de l'acide désoxyribonucléique tritié d'origine bactérienne, injecté par voie intraveineuse à des souris femelles impubères traitées à l'oestradiol, est incorporé dans les ovaires et le vagin, à l'exclusion de l'utérus.

Ces résultats ont été confirmés avec plusieurs préparations de DNA-<sup>3</sup>H et une étude autoradiographique des organes a montré l'existence d'un marquage des noyaux cellulaires 2 minutes déjà après l'injection du produit.

---

(+) Dans les embryons d'orge, par exemple, la quantité de RNA exogène qui peut être transférée est voisine de celle qui apparaît normalement, pour un même laps de temps, dans les organes en croissance.

Une étude approfondie de la synthèse du DNA dans ces organes a été effectuée à l'aide de thymidine-<sup>3</sup>H ou de DNA-<sup>3</sup>H hydrolysé. Elle indique que cette synthèse est très importante dans l'utérus et très faible dans le vagin et les ovaires. L'étude de l'activité mitotique de ces tissus montre l'existence de périodes d'activité mitotique intense qui semblent succéder aux périodes d'incorporation active de thymidine (utérus) ou de DNA (vagin et ovaires) <sup>(+)</sup>.

Ces résultats, obtenus par les méthodes biochimiques classiques, ont été confirmés par chromatographie sur papier de DEAE-cellulose. Dans ce cas, nous avons vérifié que le profil chromatographique du DNA injecté par voie intraveineuse dans l'animal était retrouvé dans les homogénats d'ovaires, tandis que, dans l'utérus, on observe une plus faible incorporation d'un DNA modifié.

Des essais préliminaires ont été entrepris afin d'étudier l'effet des radiations sur ces phénomènes (5).

#### B. Tissus normaux ou cancéreux

##### a) in vivo

Des souris femelles C<sup>+</sup>, porteuses d'un carcinome spontané, ont été injectées par voie intraveineuse à l'aide d'acide désoxyribonucléique marqué.

Les animaux ont été sacrifiés à des temps variables après l'injection. Les tissus et organes sont prélevés, homogénéisés et soumis à l'analyse chromatographique sur papier de DEAE-cellulose.

Nos résultats (8, 16) montrent que, 10 minutes déjà après l'injection, un fort pourcentage du DNA injecté a été absorbé par les organes. Ce pourcentage est proche des 95 % dans le cas des préparations de DNA les plus polymérisées. L'avidité des différents organes et tissus, pour le DNA injecté, est très variable d'après le tissu considéré. Ce sont les ovaires qui manifestent l'avidité la plus grande, suivis par la tumeur, la peau, l'intestin, les reins, les poumons, etc... Outre ces différences de quantités, il existe des variations très nettes dans les diagrammes d'élution de la radioactivité. Les fractions obtenues pour les ovaires, la peau, l'intestin, les reins et la rate sont très semblables à celles du sang et du DNA original. Dans les autres organes, et spécialement dans le foie, le DNA absorbé est dégradé. Des résultats ont été confirmés sur des organes perfusés ou en culture.

---

(+) On retrouve ici cette règle d'équilibre entre synthèse et translocations déjà observée dans l'orge (2). Les tissus qui synthétisent beaucoup de DNA à partir de petits précurseurs sont, en général, peu avides de DNA exogène.

b) en perfusion

Les résultats (8) montrent que:

1. Le foie dégrade le DNA en mononucléotides; il ne retient pas de DNA polymérisé (diagrammes identiques pour les sangs veineux et artériels); la bile formée pendant l'expérience est très radioactive.
2. L'intestin paraît retenir surtout les fractions polymérisées du DNA. Il semble se saturer rapidement en fractions de faible poids moléculaire (différences marquées des diagrammes des sangs veineux et artériels).
3. Le rein perfusé semble accumuler d'abord les fractions polymérisées du DNA, pour les libérer ensuite très rapidement dans le sang veineux.

c) en culture in vitro

Des techniques de culture d'organes ont été mises au point dans le but de maintenir en survie et, éventuellement, de permettre la croissance d'organes ou de tissus embryonnaires in vitro.

Ces techniques nous permettent actuellement de maintenir en survie (révélée par l'incorporation de la thymidine-<sup>3</sup>H et la réponse à l'oestradiol macroscopique); pendant 2 à 3 jours les ovaires et, pendant 7 jours, l'utérus.

D'autre part, les techniques d'analyse microchimique, rendues nécessaires par la nature même du matériel, sont également au point actuellement.

Les résultats biochimiques (8) obtenus à l'aide d'ovaires embryonnaires, maintenus en survie in vitro et traités par du DNA marqué, montrent que l'organe est capable de fixer une certaine quantité d'acide désoxyribonucléique intact. L'interprétation de ces résultats est cependant, actuellement, encore difficile et diverses expériences contrôles sont en cours, à la fois sur ovaires embryonnaires et sur ovaires de souris impubères de 3 semaines, traitées à l'oestradiol, dans le but de préciser la localisation exacte et la cinétique du marquage.

Dans cette optique, des expériences de survie in vitro, après pulse de marquage in vivo, sont également en cours.

Nous espérons, grâce à ces techniques, pouvoir étendre notre étude à l'effet des rayons X sur la fixation de DNA-<sup>3</sup>H par des organes séparés du contexte animal.

Les premiers résultats obtenus sur des tractus génitaux embryonnaires montrent que la synthèse du DNA reste très active pendant plusieurs jours. Ceci nous permettra peut-être d'étudier en détail l'éventualité d'une translocation de macromolécules à l'intérieur du tractus génital.

d) résorption intestinale

Nous avons, dans une série d'expériences, examiné le sort du DNA hautement polymérisé, injecté dans le duodénum de souris normales et irradiées. Les résultats préliminaires obtenus dans ce domaine indiquent que le DNA est résorbé très rapidement par l'intestin dans le sang et, de là, dans les organes, d'une façon à peu près semblable à ce qui se passe lorsqu'il est injecté par voie intraveineuse. La différence est que, dans ce cas, le foie semble capable d'accumuler de l'acide désoxyribonucléique intact; à noter que la voie de résorption, très différente par rapport au cas précédent, pourrait expliquer ces résultats apparemment contradictoires.

Dans le cas d'animaux irradiés par 2500 r, 3 jours avant l'injection d'acide désoxyribonucléique dans l'intestin, on observe une très bonne résorption du DNA par la paroi intestinale, une absorption des molécules polymérisées dans le foie et partout ailleurs, y compris dans le sang circulant, une destruction complète de l'acide désoxyribonucléique injecté.

Ces résultats préliminaires suggèrent que, nous l'action de l'irradiation, de la DNase circulerait dans le système sanguin non portal.

Différentes expériences sont en cours dans ce domaine.

c) Tissus embryonnaires

Des souris C<sup>+</sup> gravides ont été injectées par voie intraveineuse d'acide désoxyribonucléique marqué (16).

Les animaux étaient utilisés environ 10 jours après la conception, moment de la synthèse maximum de l'acide désoxyribonucléique au niveau des ovaires.

Les souris sont sacrifiées à des temps variables après l'injection (de 10 minutes à 2 heures). Les homogénats des tissus et organes des femelles gravides, ainsi que les homogénats des embryons et des placentas, sont soumis à une analyse chromatographique sur papier de DEAE-cellulose.

D'autre part, un échantillon de chaque tissu est recueilli, fixé et préparé pour l'autoradiographie.

Des souris gravides prises comme témoins sont injectées de thymidine-<sup>3</sup>H.



Les résultats obtenus montrent que, 30 minutes déjà après l'injection, un très fort pourcentage du DNA injecté a été résorbé par l'embryon (la quantité trouvée dans le placenta est très faible). Ce DNA semble apparemment être entré dans modification dans les cellules de l'embryon. Les autoradiographies montrent qu'il semble s'agir d'une absorption sélective par certains tissus. En effet, nous trouvons la marque bien localisée dans les ébauches mésodermiques. Il est encore trop tôt pour préciser de quelles ébauches il s'agit et de tirer des conclusions des conséquences éventuelles que cette absorption pourrait avoir sur la physiologie de l'animal. Néanmoins, étant donné l'incidence possible de ces résultats sur le comportement de la souris adulte et de sa descendance, nous développons actuellement cette étude en utilisant, notamment, des embryons traités par de l'acide désoxyribonucléique in vivo, puis transférés dans un utérus de souris non radioactive préparée par copulation stérile.

Les techniques utilisées semblent devoir permettre une survie et, éventuellement, un bon développement de l'embryon ainsi transplanté.

Cette technique devrait nous permettre de suivre le sort du DNA absorbé par l'embryon et les modifications éventuelles de sa structure fine.

Bien qu'il soit encore trop tôt pour tirer des conclusions des résultats préliminaires décrits ici, il nous faut souligner ceci: après l'injection de thymidine on n'observe pas le même marquage qu'après l'injection de DNA-<sup>3</sup>H.

Il semble donc bien que, dans le cas des injections de DNA-<sup>3</sup>H, nous obtenons une incorporation immédiate préférentielle dans certaines structures morphologiques.

### III. CELLULES ANIMALES

#### A. Pénétration de protéines et d'acide désoxyribonucléique

Nous avons étudié (6) le comportement des cellules de tumeur d'ascites (Landschütz) incubées in vitro en présence de protéines marquées (ovalbumine, ovomucoïde, conalbumine, lysozyme) ou d'acide désoxyribonucléique (marqué de bactéries).

L'étude biochimique et autoradiographique (11) indique que les cellules peuvent absorber ces macromolécules, qui peuvent même atteindre les noyaux cellulaires.

Maintenues en histioculture, les cellules de tumeur d'ascites utilisent également le DNA macromoléculaire sans qu'apparaisse de radioactivité dans leur fraction acido-soluble. Cette observation indique un taux d'utilisation du DNA trop rapide que pour être dû à un processus complexe de dégradation suivi de resynthèse.

Les cellules d'ascites semblent donc perméables non seulement à la ribonucléase, ainsi que l'avaient montré Ledoux et al.<sup>(+)</sup> (1956), mais même à des protéines plus grosses et à l'acide désoxyribonucléique.

#### B. Pénétration et effets de l'acide ribonucléique (RNA)

Nous avons orienté une partie de nos recherches dans la voie de l'étude de la pénétration de RNA hétérologues dans les cellules de tumeur d'ascites, afin de préciser les modalités de la pénétration du RNA, son mécanisme et ses conséquences au point de vue du métabolisme protéique.

##### a) Mise en évidence de caractéristiques du phénomène

Les résultats de ce travail <sup>(1)</sup> peuvent se résumer comme suit: Le RNA (<sup>3</sup>H ou <sup>14</sup>C) de levure ou de bactérie pénètre effectivement dans les cellules de tumeur d'ascites; la courbe de pénétration en fonction du temps montre que la vitesse d'absorption est initialement très grande et qu'elle diminue après 20 minutes, pour tendre vers un plateau. La quantité ingérée peut atteindre 4 % de la teneur des cellules en RNA. Les cellules utilisent mieux le RNA intact que le même RNA dégradé par la RNase.

L'autoradiographie montre que le cytoplasme et le noyau se marquent de façon égale et simultanée, tandis que le nucléole reste très faiblement marqué. Ceci va à l'encontre de ce qu'on observe généralement dans le cas d'une synthèse à partir de précurseurs.

Le RNA se fixe aux différentes structures subcellulaires, avec cependant une affinité plus grande pour des granules lourds qui, dans l'ultracentrifugation, selon de Duve, sédimentent avec la fraction mitochondriale.

La distribution des bases du RNA fourni (évaluée par la radioactivité de ses produits d'hydrolyse séparés par chromatographie) se retrouve

---

(+) Ledoux, L., Baltus, E. et Vanderhaeghe, F., Arch.intern.Physiol.Biochim., 64, 1, 135-136; 1956.

(1) qui constitue une partie de la thèse (14) que compte présenter prochainement P.Galand pour l'obtention du grade de Docteur en sciences (Faculté des Sciences, U.L.B.)

inchangée dans le RNA extrait des cellules qui ont été incubées en sa présence. Il en est de même de la distribution des fractions éluées par chromatographie sur papier de DEAE-cellulose.

Ces résultats indiquent que le RNA est ingéré sans qu'il y ait de remaniement notable de sa composition.

#### b) Mécanisme de la pénétration du RNA

L'étude des conditions métaboliques présidant à la pénétration du RNA exogène montre que celle-ci se fait sans modifier la consommation d'oxygène des cellules (14, 17). D'autre part, la température d'incubation règle la quantité absorbée. Il n'y a cependant pas de corrélation directe entre l'effet exercé par la température sur la consommation d'oxygène et celui qu'elle exerce sur la pénétration du RNA. C'est ainsi qu'à 0°C, où toute consommation d'oxygène est abolie, l'inhibition de l'absorption de RNA n'est que de 80 % environ. Cependant, le dinitrophénol, qui découple les phosphorylations oxydatives, peut (à condition que son action précède l'incubation en présence de RNA) inhiber la pénétration du RNA.

Il n'exerce cependant cette action que sur l'absorption qui a lieu au-delà des 5 premières minutes de l'incubation.

Ces résultats, et particulièrement le dernier qui se rapproche très fort des observations faites par Schumaker, dans le cas de la pinocytose chez l'amibe, indiquent que l'absorption de RNA se fait grâce à l'intervention active de la cellule et, selon toute vraisemblance, par un mécanisme du type "pinocytose". Cette conclusion doit être nuancée par l'observation que nous avons faite selon laquelle des cellules vieilles absorbent plus de RNA que des cellules jeunes. Etant donné que les cellules vieilles sont plus pauvres en RNA, cette observation pourrait suggérer un certain contrôle exercé par les cellules sur la pénétration du RNA, qui ne serait retenu dans les cellules qu'en fonction de la présence de "sites" intracellulaires disponibles.

#### c) Effets biologiques du RNA hétérologue

La présence de RNA de levure dans le milieu d'incubation a pour conséquence une augmentation du taux d'incorporation des acides aminés marqués dans les protéines cellulaires. (13).

Dans un milieu convenable, l'augmentation peut être de 250 %.

Le RNA d'ascites ou le RNA de foie ont le même effet.

Devant la difficulté de mettre en évidence la transmission, par un RNA hétérologue, d'une spécificité correspondant à l'organe dont il provient,

nous avons préféré étudier un système-type constitué par des polynucléotides artificiels, dont la composition correspond à une information unique.

Le poly-U et le poly-A, qui activent respectivement l'incorporation de la phénylalanine et de la lysine par les systèmes acellulaires de E.coli, ont été utilisés.

Plusieurs auteurs ayant montré que des extraits de cellules de mammifères (et notamment de cellules de tumeur d'ascites) répondaient à ces polynucléotides comme les extraits bactériens, la question de l'universalité du code ne constituait plus un obstacle théorique à notre tentative.

Les résultats obtenus sont très encourageants. Ils montrent, en effet, que dans le cas de cellules intactes, le poly-U active l'incorporation de la phénylalanine (jusqu'à 40 % au-dessus du niveau de l'incorporation normale) et inhibe celle de la lysine. Le poly-A, au contraire, active l'incorporation de la lysine de 40 % et est sans effet sur l'incorporation de la phénylalanine.

Ces résultats seront complétés par des essais réalisés en utilisant les mêmes polynucléotides (plus le poly-C) et d'autres acides aminés, afin de préciser le degré de spécificité de leur action.

Ils indiquent cependant que les cellules de tumeur d'ascites peuvent répondre effectivement à l'information véhiculée par des polynucléotides de synthèse (RNA synthétiques).

#### C. Effet de rayons X sur la pénétration des macromolécules

Nous avons étudié la pénétration de la ribonucléase-<sup>3</sup>H dans des cellules non irradiées et dans des cellules irradiées par différentes doses de rayons X.

Les résultats obtenus (3) montrent que, jusqu'à 1200 r, les rayons X activent la pénétration de la ribonucléase et qu'au-delà de cette dose, cet effet disparaît et est remplacé par un effet inhibiteur croissant avec la dose.

Il est intéressant de noter, par ailleurs, qu'une dose de 800 r augmente l'absorption du RNA et du DNA (de même donc que celle de la ribonucléase), alors que cette dose est sans effet sur la pénétration du lysozyme et de la conalbumine.

Notons toutefois que ces conclusions résultent d'une étude globale par voie biochimique. Cette remarque est nécessitée par le fait que, dans des expériences préliminaires où nous avons fait appel à la technique autoradiographique, nous avons constaté que les rayons X agissent sur la distribution intracellulaire des macromolécules ingérées.

C'est ainsi qu'une irradiation de 800 r semble avoir pour résultat de lever une barrière localisée au niveau de la membrane nucléaire. On observe, en effet, qu'en présence de lysozyme-<sup>3</sup>H, la marque surtout cytoplasmique chez les contrôles, devient spécifiquement nucléaire dans le cas des cellules irradiées.

Ces résultats, qui demandent encore à être précisés et développés, suggèrent l'existence d'un effet des radiations sur la perméabilité des différentes membranes cellulaires aux macromolécules.

Comme il s'agit d'effets immédiats des radiations, observés à des doses qui ne modifient pas l'incorporation des précurseurs, ces données ouvrent une voie particulièrement intéressante à l'étude des effets primaires du rayonnement sur les cellules.

#### BIBLIOGRAPHIE.

1. - LEDOUX, L., GALAND, P. and HUART, R. - Nucleic acids and protein metabolism of barley seedlings. III. Effect of X-rays, *Radiat.Bot.*, 2, 119-124 (1962).
2. - LEDOUX, L. and HUART, R. - Nucleic acids and protein metabolism of barley seedlings. IV. Translocation of ribonucleic acids, *Biochim.Biophys.Acta*, 61, 185-196, (1962).
3. - LEDOUX, L. and GALAND, P. - The radiosensitivity of the permeability of mammalian cells to macromolecules, *C.R.Congrès "Radiation Research"*, Harrogate, 195, (1962).
4. - LEDOUX, L. - Effect of X-rays on the translocation of labeled nucleic acids and proteins in germinating barley, in *"Biological effects of ionizing radiation at the molecular level"*, A.I.E.A., Brno, 176-182, (1962).
5. - LEDOUX, L. and CHARLES, P. - Effect of X-rays on the hyperplastic growth of mouse vagina, uterus and ovaries, *C.R.Congrès "Radiation Research"*, Harrogate, 92, (1962).
6. - LEDOUX, L. et GALAND, P. - Transport d'acides nucléiques et de protéines à travers les membranes cellulaires, in *"Protides of the biological fluids"*, 10, 277-280, (1962).
7. - LEDOUX, L., CALLEBAUT, M., CHARLES, P. et LEONARD, A. - Sur la possibilité d'un transfert d'acide désoxyribonucléique dans le système génital de la souris, *Arch.intern.Physiol.Biochim.*, 70, 309-312, (1962).
8. - LEDOUX, L., GERBER, G. et CHARLES, P. - Sur la possibilité d'utilisation d'acide désoxyribonucléique d'origine exogène par des organes animaux, *Arch.intern. Physiol.Biochim.*, 70, 311-313, (1962).
9. - LEDOUX, L. and HUART, R. - The translocation of nucleic acids in germinating barley seeds, *Intern.Symp.Physiology, Ecology & Biochem. of Germination*, Greifswald, A, 7, d5, (1963).

- 10 - LEDOUX, L. et HUART, R. - Absorption d'un acide ribonucléique marqué au thiouracile ou d'acides désoxyribonucléiques par des embryons d'âge en germination, Arch.intern.Physiol.Biochim., 71, 822-823, (1963).
- 11 - GALAND, P. - Etude chromatographique et autoradiographique de la pénétration de l'acide ribonucléique de levure dans des cellules tumorales en suspension, Arch.intern.Physiol.Biochim., 71, 816, (1963).
- 12 - LEDOUX, L., CHARLES, P. et DAVILA, C. - Etude chromatographique de quelques modifications de structure provoquées dans l'acide désoxyribonucléique de thymus de veau, Arch.intern.Physiol.Biochim., 71, 820-22, (1963).

Sous presse :

- 13 - GALAND, P. - Effet de polynucléotides naturels et artificiels sur l'incorporation d'acides aminés marqués par les cellules de Landschütz (in vitro), Arch.intern.Physiol.Biochim., 2 p.
- 14 - GALAND, P. - Pénétration et effets d'acides nucléiques (naturels et artificiels) dans les cellules du carcinôme de Landschütz, Faculté des Sciences - U.L.B. (120 pages).
- 15 - LEDOUX, L. - Translocation of exogenous DNA in barley seedlings, C.R. Congrès intern.Biochimie, New York, 1964.
- 16 - LEDOUX, L., CALLEBAUT, M., CHARLES, P., GERBER, G., and LEONARDI, M. - Translocation of exogenous DNA in mammals, C.R. Congrès intern.Biochimie, New York, 1964.
- 17.- GALAND, P., SANCTUCCI, F., REMY, J. and LEDOUX, L. - Comparison between the uptake of exogenous RNA and the RNA anabolism in ascites tumors cells, C.R.Congrès intern.Biochimie, New York, 1964.

## ETUDE SUR LA RADIOPROTECTION DU FOIE DE RAT EN REGENERATION

### I. DISTRIBUTION INTRACELLULAIRE D'HYDROLASES CYTOPLASMIQUES

Il est bien connu que l'irradiation totale d'un mammifère provoque une hausse de l'activité des nucléases dans la fraction soluble du cytoplasme de rate et de thymus aux dépens des fractions granulaires (mitochondries et lysosomes).

Afin de voir si cette labilisation d'enzymes est en rapport avec la radiosensibilité, nous nous sommes adressés à un organe dont la radiosensibilité semble varier au cours du temps: le foie en régénération (1, 2). On sait, en effet, que la régénération est retardée davantage et par de plus faibles doses de rayons X lorsque l'irradiation est donnée avant le début de la synthèse du DNA (c'est-à-dire avant la 18ème heure) qu'après.

Le cytoplasme soluble, c'est-à-dire la fraction restante après sédimentation des mitochondries et des lysosomes, contient environ 15 % de l'activité totale de la désoxyribonucléase acide et de la phosphatase acide de l'homogénat de foie normal ou en régénération.

En irradiant le rat par 700 r, immédiatement avant ou après l'hépatectomie partielle, on constate que, 6 heures après l'irradiation, le pourcentage des deux enzymes solubilisés passe de 15 à 30 %. Si l'irradiation est donnée 12 heures après l'hépatectomie, la proportion d'enzymes dans le cytoplasme soluble n'atteint pas 25 % en 6 heures; elle est inférieure à 20 % après une irradiation donnée à la 18ème heure. Enfin, on n'observe plus aucune solubilisation de DNase acide ou de phosphatase acide lorsque les rats sont irradiés 24 heures après l'hépatectomie partielle. Dans ce dernier cas, la synthèse de DNA avait déjà commencé au moment de l'irradiation et l'organe était donc moins radiosensible. La période de plus grande radiosensibilité du foie en régénération correspond donc à une période où les lésions des lysosomes sont également plus prononcées.

### II. RELATION ENTRE L'ACTIVITE DE LA DESOXYRIBONUCLEASE ACIDE ET LA CROISSANCE

Nous avons observé précédemment que, dans les racines de pois, l'activité spécifique de la DNase acide était beaucoup plus élevée dans le méristème, où se localisent les mitoses, que dans le segment supérieur. C'est chez le rat en croissance que nous avons poursuivi cette étude en mesurant l'activité de la DNase acide d'organes ayant des vitesses de croissance différentes (3).

Sur des rats âgés d'une heure, 1, 2, 6, 21 et 49 jours, on a prélevé le cerveau, le foie, la rate et le rein et rapporté l'activité de leur DNase acide à la teneur en protéines ou au taux de DNA. A tous les âges, l'index mitotique est plus élevé dans la rate que dans les autres tissus. Exprimée par mg de DNA (c'est-à-dire approximativement par cellule), l'activité de la DNase acide est moins élevée dans la rate, qui est pourtant le tissu à croissance la plus rapide. Mais les cellules de la rate sont plus petites que celles des trois autres tissus, comme l'indiquent le nombre de noyaux par champ microscopique et aussi le taux de protéines par cellule (par mg de DNA).

La teneur d'une cellule en DNase acide est donc en rapport direct avec la taille de la cellule. Par contre, l'activité spécifique par mg de protéines est toujours la plus élevée dans la rate et la plus basse dans le cerveau, comme le sont aussi les index mitotiques.

Si la relation entre l'activité de la DNase acide et la croissance n'apparaît pas nettement lorsqu'on compare des organes à vitesses de croissance différentes, elle s'impose, par contre, lorsqu'on l'étudie dans un organe à mitoses synchronisées, comme le foie en régénération. Dans ce cas, l'activité de la DNase acide augmente de près de 100 % entre la 12ème et la 18ème heure qui suit l'hépatectomie. Or, à ce moment, il n'y a encore ni mitoses, ni synthèse de DNA.

On peut donc affirmer qu'il s'agit bien, dans ce cas, d'une hausse du taux de DNase acide par cellule et que, de plus, cette hausse précède le début de la synthèse du DNA.

### III. RADIOPROTECTION DE LA BIOSYNTHESE DU DNA DANS LE FOIE DE RAT EN REGENERATION

Dans cette série d'expériences on a mesuré l'incorporation de thymidine tritiée dans le DNA de foie de rats hépatectomisés et soumis à une irradiation totale de 700 r, avec ou sans protection chimique par l'AET.

Il ressort des premiers résultats obtenus que l'inhibition de biosynthèse de DNA observée après l'irradiation est moins prononcée, à la 48ème heure, chez les rats injectés d'AET que chez les rats irradiés sans protection.

### IV. INHIBITION DE LA POLYMERASE DU DNA PAR LES MICROSOMES DU FOIE DE RAT

Davidson (Glasgow) a montré que des extraits aqueux de foie de rat normal inhibent la DNA-polymérase d'extraits aqueux de tissus en prolifération. Tout en confirmant cette observation, nous avons constaté cependant que des extraits de foie normal en saccharose 0,25 M (isotonique) étaient dépourvus de pouvoir inhibiteur. Nous avons ainsi été amenés à fractionner du tissu hépatique par centrifugation différentielle en noyaux, mitochondries et microsomes



organites que nous avons ajoutées ensuite au milieu-test pour la mesure d'activité de la DNA-polymérase. Seule la fraction de microsomes produit une inhibition prononcée (80 à 90 %) de l'incorporation de thymidine marquée dans une amorce de DNA. Les ribosomes, par contre, n'ont aucune action inhibitrice. Les membranes microsomiales, responsables de l'inhibition, sont riches en phosphatases susceptibles d'interférer avec la synthèse du DNA in vitro.

Nous avons cependant observé aucune corrélation entre le degré d'inhibition de la DNA-polymérase et l'activité des phosphatases. Ainsi un extrait de foie en saccharose 0,25 M est dépourvu de pouvoir inhibiteur, alors qu'il manifeste une activité phosphatasique plus élevée que celle d'un extrait aqueux.

En préparant par centrifugation quatre fractions de microsomes de plus en plus légers, on constate que la dernière, la plus légère, n'a plus de pouvoir inhibiteur, alors que l'activité spécifique de ses phosphatases est presque égale à celle des fractions de microsomes globaux.

A teneur en protéines égale, les microsomes de foie en régénération ont un pouvoir inhibiteur moitié moindre de celui des microsomes de foie normal. Le fait que la DNA-polymérase paraît bien se trouver en grande, si pas en majeure partie dans le cytoplasme, renforce l'intérêt de l'observation d'un facteur inhibiteur de cet enzyme sur les microsomes. Que ce facteur puisse jouer un rôle physiologique est suggéré par le fait que son activité diminue au cours de la régénération hépatique (4, 5, 6, 7, 9 et 12).

#### V. LES PHOSPHOKINASES DE LA THYMINES DANS LE FOIE EN REGENERATION

Des extraits aqueux de foie en régénération ont servi à mesurer l'activité des ATP-thymidine-phosphotransférases. On incube les extraits à pH 8,0 en présence d'ATP, de Mg et de thymidine-2-<sup>14</sup>C; après 30 minutes, on arrête la réaction par addition d'acide perchlorique. La fraction acido-soluble est chromatographiée sur papier pour séparer la thymidine (TdR) et ses esters mono-, di- et triphosphates (TMP, TDP, TTP).

Une première série d'expériences a eu pour but de voir les effets de l'irradiation totale et d'un radioprotecteur chimique, l'AET, sur l'activité des kinases du foie en régénération.

Les kinases de la thymidine, inactives dans le foie normal, commencent à s'activer 12 heures après l'hépatectomie partielle; un maximum d'activité est atteint à la 36ème heure.

En irradiant les rats par 1000 r avant l'héparctomie, on retarde de 12 heures l'apparition des kinases. L'injection d'AET avant l'irradiation ne diminue par ce retard (8).

#### VI. ANOMALIE DE COMPORTEMENT DE LA THYMIDINE TRITIEE IN VITRO

Au cours des mesures d'activité des phosphokinases de la thymidine, nous nous sommes étonnés d'obtenir des résultats très différents avec la thymidine-2-<sup>14</sup>C et avec la thymidine-6-<sup>3</sup>H.

Nous avons donc comparé systématiquement le comportement de ces deux thymidines (10, 11).

Par rapport à <sup>3</sup>H-TdR, une plus grande proportion de TdR-<sup>14</sup>C est convertie en esters phosphorés. Quatre extraits de foie ont assurés la phosphorylation de 22, 32, 34, et 43 % de <sup>14</sup>C-TdR (somme de TMP + TDP +TTP) et respectivement 3,3, 6,1, 5,9 et 8,3 % de <sup>3</sup>H-TdR.

Les produits de radiolyse de <sup>3</sup>H-TdR (représentant au maximum 15 % de la radioactivité totale) n'interfèrent pas avec la réaction enzymatique, car la présence d'<sup>3</sup>H-TdR ne diminue pas la phosphorylation de <sup>14</sup>C-TdR.

On sait que les extraits de foie catabolisent la thymidine en dihydrothymine, en acide  $\beta$ -ureido puis  $\beta$ -aminoisobutyrique. Au cours de cette dernière transformation, le carbone 2 est perdu (en CO<sub>2</sub>). Nous constatons, en effet, une certaine perte de radioactivité de la TdR-2-<sup>14</sup>C. Mais, dans les mêmes conditions, 1-<sup>3</sup>H-TdR perd plus de radioactivité. C'est ainsi qu'on a observé des pertes de 3, 5, 10, 15 et 16 % pour le <sup>14</sup>C-TdR contre, respectivement, 25, 32, 49 et 36 % pour <sup>3</sup>H-TdR. Cette perte d'<sup>3</sup>H ne peut s'expliquer par le seul catabolisme de la thymine. Il est possible qu'il se passe un échange d'<sup>3</sup>H entre la thymine et le milieu.

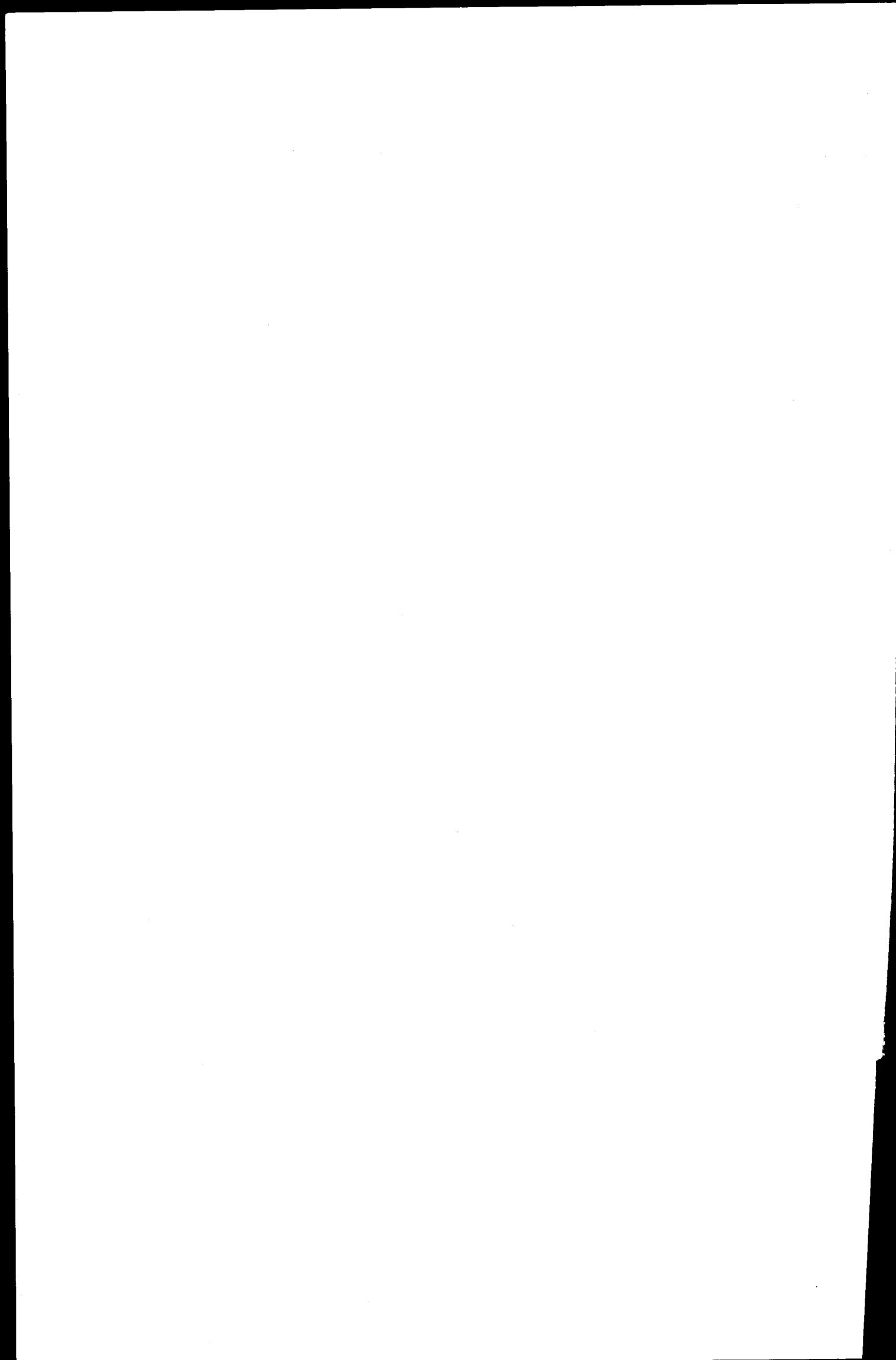
Les faits décrits ci-dessus expliqueraient certaines anomalies constatées par d'autres auteurs comme, par exemple, une période d'incorporation d'<sup>3</sup>H-TdR dans le DNA beaucoup plus courte que celle de <sup>14</sup>C-TdR (Rubini et Cronkite) ou certains marquages cytoplasmiques inattendus par <sup>3</sup>H-TdR (Takats et Smellie; de Recondo et Frayssinet).

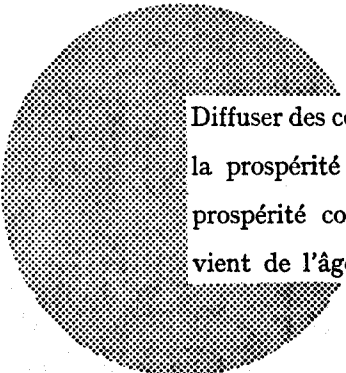
## BIBLIOGRAPHIE

- 1 - GOUTIER-PIROTTE, M. et GOUTIER, R. - Effet de l'irradiation totale du rat sur l'activité libre de la DNase acide et de la phosphatase acide dans le foie en régénération, Arch.intern.Physiol.Biochim., 70, 154 (1962).
- 2 - GOUTIER-PIROTTE, M. and GOUTIER, R. - Acid deoxyribonuclease and acid phosphatase activities in regenerating rat liver after whole-body X-irradiation, Radiat.Res., 16, 728-735 (1962).
- 3 - GOUTIER, R. et LEONARD, A. - Relation entre l'activité de la désoxyribonucléase acide et la croissance chez le rat, Exptl.Cell Res., 28, 336-341 (1962).
- 4 - GOUTIER, R. et BOLOGNA, I. - Présence d'un inhibiteur des enzymes de synthèse du DNA au niveau des microsomes de foie de rat, Arch.intern.Physiol.Biochim., 70, 570-571 (1962).
- 5 - GOUTIER, R. and BOLOGNA, I. - Effects of total-body C-irradiation on an inhibitor of the DNA-synthesizing enzymes of regenerating liver, in "Biological effects of ionizing radiations at the molecular level", A.I.E.A., 287-291 (1962).
- 6 - GOUTIER, R., GOUTIER-PIROTTE, M. and BOLOGNA, I. - Acid DNase, acid phosphatase and DNA-synthesizing enzymes in regenerating rat liver after total body X-irradiation, IId Intern.Congress Radiation Research, Harrogate, 136, (1962).
- 7 - GOUTIER, R. et BOLOGNA, I. - Localisation intracellulaire, dans le foie de rat, d'un facteur inhibiteur de la synthèse du DNA in vitro, Biochim.Biophys. Acta, 72, 40-47 (1963).
- 8 - GOUTIER, R., BAUGNET-MAHIEU, L. et SEMAL, M. - Effets de l'irradiation totale et de l'AET sur l'activité des kinases de la thymidine dans le foie en régénération, Arch.intern.Physiol.Biochim., 71, 130 (1963).
- 9 - BOLOGNA, I., GOUTIER, R. et VANDERGOTEN, R. - Incidence des microsomes de foie de rat sur la synthèse du DNA in vitro, Arch.intern.Physiol.Biochim., 71, 293 (1963).

### Sous presse :

- 10 - BAUGNET-MAHIEU, L., GOUTIER, R. et SEMAL, M. - Anomalie de comportement de la thymidine tritiée au cours de sa phosphorylation in vitro, Arch.intern. Physiol.Biochim., (1963).
- 11 - GOUTIER, R., BAUGNET-MAHIEU, L. and SEMAL, M. - A comparison of the in vitro enzymatic phosphorylation of thymidine labelled with  $^3\text{H}$  or  $^{14}\text{C}$ , Vith Intern. Congress of Biochemistry, New York, (1964).
- 12 - BOLOGNA, I., GOUTIER, R. and VANDERGOTEN, R. - The inhibition of DNA-polymerase by rat liver microsomes, Vith intern.Congress of Biochemistry, New York, (1964).





Diffuser des connaissances c'est distribuer de la prospérité — j'entends la prospérité collective et non la richesse individuelle — et cette prospérité contribue largement à la disparition du mal qui nous vient de l'âge des ténèbres.

Alfred Nobel

EURATOM — C.I.D.  
51-53, rue Belliard  
Bruxelles (Belgique)